

ライフスタイルと骨代謝関連遺伝子多型性等が 転倒による骨折予防の一助としての 骨密度の長期的加齢変化に及ぼす影響

武蔵丘短期大学 碓井 外 幸
(共同研究者) やわたメディカル センター 平 加 保 彦
金沢医科大学 釣 谷 伊希子
北陸体力科学研究所 勝 木 建 一
同 勝 木 道 夫

Effects of The Life-style and Bone Metabolism-related Gene Polymorphism on Long-term Changes with Aging in The Bone Mineral Density in Relation to The Prevention of Fractures Caused by Falling

by

Sotoyuki Usui

Musashigaoka College

Yasuhiko Hiraka

Yawata Medical Center

Ikiko Turitani

Kanazawa Medical University

Ken-ichi Katsuki, Michio Katsuki

Hokuriku Institute of Wellness and Sports Science

ABSTRACT

To examine the effects of the lifestyle and bone metabolism-related gene polymorphism on changes with aging in the bone mineral density, 60 healthy subjects, consisting of 23 males (mean age, 35.2 ± 9.7 years) and 37 females (mean age, 36.8 ± 9.1 years), in whom the bone mineral density was measured every year at about the same time in the past 6-10 years, underwent various investigations (basic examination, exercise, nutrition),

measurement (physique, physical fitness), and examination (VDR and ER gene polymorphism).

The results were as follows.

1. In both sexes, the frequency of the VDR gene polymorphism was $bb > Bb > BB$ and $aa > Aa > AA$, and that of the ER gene polymorphism was $Pp > pp > PP$ and $xx > Xx > XX$, which were similar to results of past studies with Japanese subjects.
2. In women, the mean reduction rate by aging of the bone mineral density with different types of the gene polymorphism (regression coefficient by linear regression analysis, slope) was slightly higher in the hetero-types (Bb, Aa, Pp, Xx) than in the small homo-types (bb, aa, pp, xx).
3. In women, the effects of the BMI (Body Mass Index) and (walking) steps per day on the mean reduction rate by aging of the bone mineral density were slightly higher in the hetero-types than in the small homo-types.
4. These findings shown in the above 2 and 3 suggested that the stimulation level of bone was higher in the hetero-types than in the small homo-types. These findings indicated that improvement of the lifestyle and understanding one's own physique and genetic factors are important for the effective prevention and treatment of osteoporosis taking into consideration the effects on long-term changes with aging in the bone mineral density in relation to the prevention of fractures by falling.

要 旨

ライフスタイルと骨代謝関連遺伝子多型性等が骨密度の加齢変化に及ぼす影響を検討するために、過去6～10年間に毎年、ほぼ同じ時期に骨密度を測定してきた健常な男性23名(35.2±9.7歳)と女性37名(36.8±9.1歳)を対象として、各種調査(基礎、運動、栄養等)・測定(形態、体力等)・検査(VDR・ER遺伝子多型等)を行ない、そのデータを相互に検討した。

その結果は、以下のとおりであった。

1. 遺伝子多型の出現頻度は、男女ともにVDR遺伝子多型では $bb > Bb > BB$, $aa > Aa > AA$, ER遺伝子多型では $Pp > pp > PP$, $xx > Xx > XX$ であり、日本人を対象とした先行研究と類似していた。

2. 遺伝子多型別BMDの加齢による平均低下率(直線回帰による回帰係数, スロープ)は、女

性で、ヘテロ型(Bb型, Aa型, Pp型, Xx型)の方がスモールホモ型(bb型, aa型, pp型, xx型)よりも、高い傾向にあった。

3. BMDの加齢による平均低下率に及ぼすBMIと1日当りの歩数の影響は、女性で、ヘテロ型の方がスモールホモ型よりも、高い傾向にあった。

4. 上記2,3より、ヘテロ型の方がスモールホモ型よりも、骨の被刺激性が高いことが示唆された。

以上のことから、転倒による骨折予防の一助としての骨密度の長期的加齢変化に及ぼす影響を考慮した骨粗鬆症の効果的な予防と治療には、生活習慣を改善するとともに、自らの形態と遺伝的素因を把握することが大切であることが理解された。

緒 言

“寝たきり”の原因となる骨折は骨密度と密接な関係にある。このため、その予防法は骨密度のピーク値を高くし、その後の低下を抑制すること

が重要である。しかし、これに影響する骨代謝は、性、年齢や体格、体力、各種生理機能等の身体的(内的)要因や、運動、栄養、休養等の生活習慣的(外的)要因だけでなく、遺伝的要因にも影響されることから、骨密度とその経年的変化は個人差が大きく、その増加促進や低下抑制は個別に対処(個別教育)する必要がある。

これまでの遺伝子が関与した研究成果としては、最大骨量とその後の骨量減少に、生活習慣(運動、栄養、等)因子に加えて、あるいはそれ以上に、遺伝的素因が関与していることが報告^{17,20,21)}された後、近年になって、ビタミンD₃受容体遺伝子多型と骨密度に関連があり、骨折の危険性が増大する低骨密度になる年齢に明らかな差が認められたとの報告¹⁵⁾やエストロゲン受容体遺伝子の突然変異による低骨密度が観察されたとの報告²²⁾の他、骨密度と遺伝子多型との相関に関する報告^{3,4,19,23,29)}が多数あることから、遺伝子多型が骨密度に何らかの影響を及ぼすものと考えられるようになった。

しかし、これに異論を唱える研究報告^{9,10)}や、日本人若年女性の研究から、運動習慣とVDR遺伝子多型は、それぞれ独立した別のメカニズムで骨密度調整に関与しているとの研究報告¹²⁾、あるいは卵巣機能の維持・低下と関連のある閉経前後の期間により異なるとの報告¹⁴⁾やVDR遺伝子多型が骨密度に与える影響は、骨の測定部位や年齢によっても異なるとの報告¹⁾もあり、未だに統一の見解は得られていない。これに関しては、対象とするグループや人種により遺伝子多型出現頻度に偏りがあることもその一因と考えられる。またVDRやER遺伝子単独の分類では、骨密度の変化にあまり影響しないが、両者の組み合わせで

あるハプロタイプに分類するとその影響が見られる²⁴⁾ことから、複数の遺伝子多型群が異なった生理的作用を介して骨代謝に影響していることが考えられる。いずれにしても遺伝的要因に関しては、双生児による研究から、骨密度の個人差の40~60%を占めることが報告されている³⁾ことから、遺伝的要因と骨密度の関係は深いものと考えられる。

そこで本研究では、転倒による骨折予防の一助としての骨密度の維持・増強のための“個別教育”にその成果を生かすために、骨代謝関連遺伝子(ビタミンD受容体; VDR, エストロゲン受容体; ER)多型性と体型および運動や食事と関連のあるライフスタイルの違いが、骨密度とその経年変化(長期にわたる縦断的变化)に及ぼす影響を検討することを主要な目的とした。

1. 研究方法

1.1 被検者

被検者は、過去6~10年間に7~11回(1年に1回)の骨密度測定を受けた男性23名と女性37名とした。その年齢と形態的特徴は、表1のとおりであり、BMIによる特別な痩せ型や肥満型はいなかった。

1.2 調査・測定・検査・分析方法

調査・測定・検査項目は、次のとおりであった。
 調査項目;基礎調査(年齢,睡眠時間,嗜好品-煙草,アルコール等)
 運動調査(1日当たりの歩数等)
 栄養調査(エネルギー・Ca・P摂取量等)
 測定項目;形態(身長,体重-BMI)
 体力(背筋力等)

表1 被検者の年齢と形態的特徴

	人数	平均年齢	平均身長	平均体重	平均BMI
男性	23名	35.2 ± 9.7 (21-67) 歳	169.7 ± 5.3cm	62.7 ± 4.7kg	21.8 ± 1.2%
女性	37名	36.8 ± 9.1 (21-60) 歳	156.4 ± 5.0cm	54.4 ± 6.5kg	22.2 ± 2.5%

BMI:Body Mass Index:体重(kg)/身長(m)²

骨密度—第2-4腰椎正面・側面 (L2-4 BMD), (L2-4, La BMD) 大腿骨頸部左・右 (FNI BMD), (FNr BMD) 《米国ノーランド社製 XR-26, DXA方式》

検査項目; 血液検査 (TP, ALP, HDL-C, TG, PTH-C, CT, Ca, iP, etc)

1. 3 遺伝子解析法

静脈血よりゲノムDNAを抽出後, イントロン内一塩基多型 (iSNP:intron Single Nucleotide Polymorphism) である第12染色体イントロン8上

にあるVDR遺伝子のBsm I・Apa I多型と, 第6染色体イントロン1上にあるER遺伝子のPvu II・Xba I多型の見られる認識部位をそれぞれPCR法にて増幅した. その後, その認識部位を制限酵素で消化 (切断) し, 遺伝子断片をアガロース電気泳動法にて同定することにより, 遺伝子を決定した. この際, 制限酵素で消化されない対立遺伝子を大文字で, 消化される遺伝子を小文字で現した. これにより, 対立遺伝子Alleleの塩基性配列の違いによる組み合わせにより, ホモタイプ2型 (ラージホモ, スモールホモ) とヘテロタイプ1型に分類した (図1).

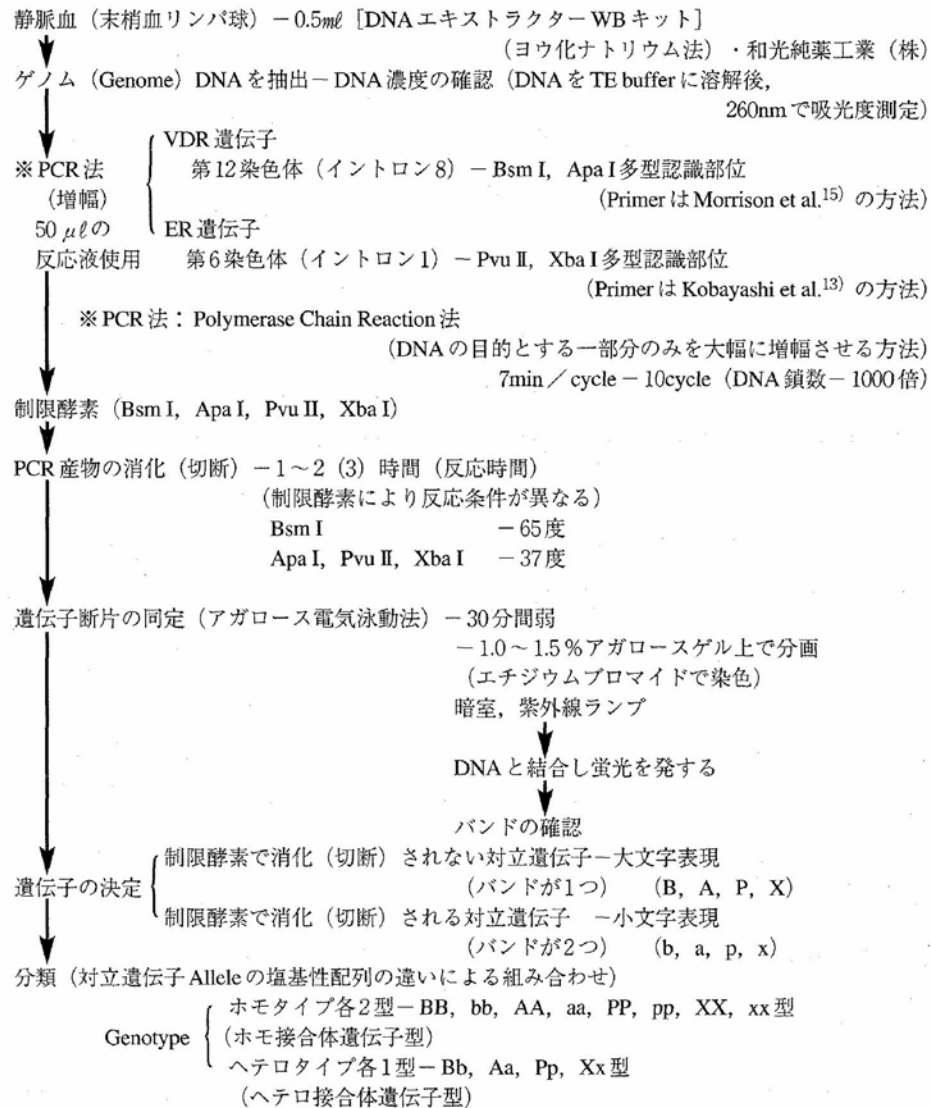


図1 遺伝子解析法 [制限酵素断片長多型 (RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism)) 解析]

VDR; Vitamin D Receptor, ER; Estrogen Receptor

1. 4 統計処理法

相関分析と平均値の差の検定を行ない、いずれも $p < 0.05$ をもって有意とした。なお、相関分析は Bartlett の分布に関する球状検定により、変数間の相関を確認した後に行なった。平均値の差の検定には、一元配置分散分析法による多重比較検定により帰無仮説の棄却後、Fisher's PLSD 法による多重比較を実施した。

1. 5 個人別 BMD 値の経年変化と体型、生活習慣の毎年の調査測定値を指数化し対応させる方法

10 年にもわたる個々人の経年的 BMD 値は、ある年齢以上になると、全体として下降していく傾向にあるが、生理学的な変化や測定ごとの微妙な姿勢変化による測定部位と放射線の照射角度の変化等により、毎年（回）、上昇・下降し、単純で滑らかな加齢変化ではなく、かなりの凸凹が生じる。このため、BMD の初期値（ベースライン）と最終値との差や閉経時の BMD 値（ベースライン）とその後のある時点での BMD 値との差は、必ずしもベースラインからの差の最大値とはならない。そこで本研究では、一つの試みとして、これまでの先行研究によく使用されているベースラインでのデータを基本として、その後の変化量や変化率を検討する方法ではなく、この全体としての下降傾向を最小自乗法により直線回帰し、その回帰係数（Slope）をもってある個人の低下傾向の数値とすることとした。体型や生活習慣の代表的な指標である BMI や 1 日当りの歩数も、6～10 年間で少しずつ BMD 値に影響するものであり、どの時点のものがどの時点の BMD 値に影響するかは不明確である。このため、年ごとに調査測定されたそれらと BMD 値とを対応させたものを平均化するよりも、その期間における平均値をその代表値（この際、年齢も平均値となる）と考え、それと回帰係数とを対応させて、その影響力を検

討することとした。

1. 6 研究に対する倫理上の承認

本研究は、北陸体力科学研究所倫理委員会の承認を得て行なわれた。

2. 研究結果

2. 1 基礎・運動・栄養調査および形態・体力測定、血液検査結果

各被検者にアンケートにより、睡眠時間や嗜好品、1 日当りの歩数、エネルギー・Ca・P 摂取量等の調査と BMI、背筋力等の測定および血液検査をし、男女別、遺伝子多型別にその平均値の差を見たが、いずれにおいても有意な差は認められなかった。

2. 2 BMD 平均値と BMD 平均低下率の加齢変化

6～10 年間に 7～11 回測定された BMD の個人別・平均年齢別平均値とこの間における個人の骨密度変化の関係を求める一つの方法として、BMD 値の経年変化を直線回帰し、その回帰係数（直線の傾き）から、BMD 平均低下率を求めた。

L2-4 BMD 平均値および同平均低下率と BMD 測定時（期間中）平均年齢との関係は、いずれも男性では 50 歳代まで加齢による影響はほとんど認められなかった。しかし、女性では閉経後に急激に低下する傾向が認められた（図 2-3）。

FNr BMD 平均値と同平均低下率は、いずれも、女性で L2-4 BMD と同様の加齢変化の傾向が認められた（図 4-5）。また、男性においても L2-4 BMD と同様の傾向が認められた。

2. 3 遺伝子多型の出現頻度

VDR 遺伝子・ER 遺伝子解析から、それぞれ次のような遺伝子多型が決定された。

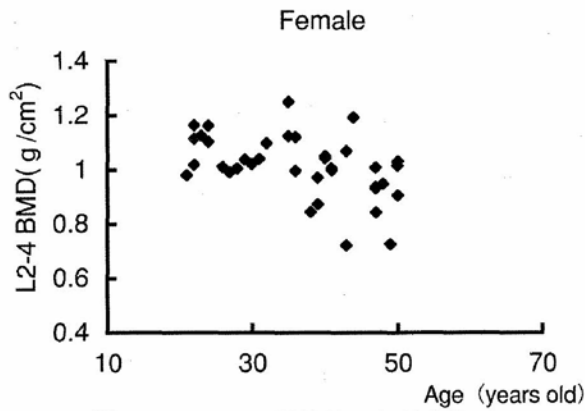


図2 L2-4BMD平均値の加齢変化
L2-4;Lumbar2-4

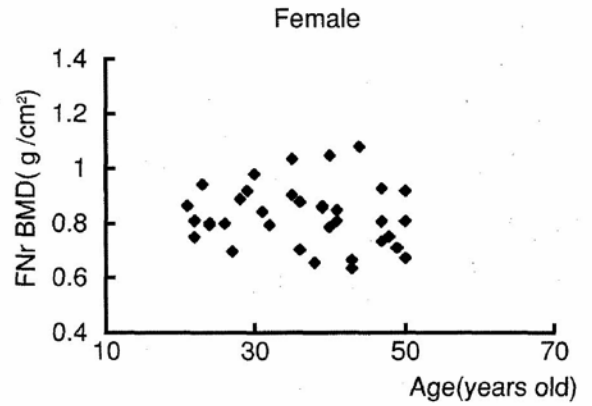


図4 FNr BMD平均値の加齢変化
FNr; Femoral Neck (right)

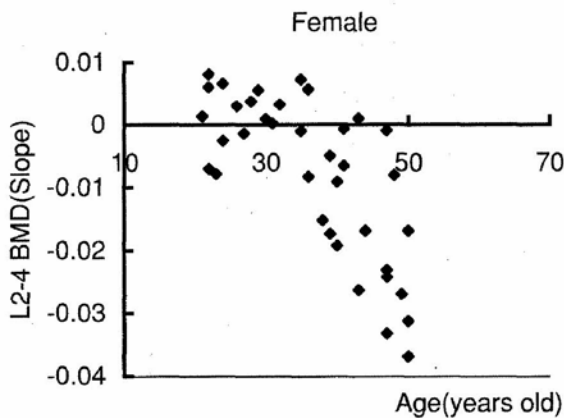


図3 L2-4BMD平均低下率の加齢変化
L2-4;Lumbar2-4

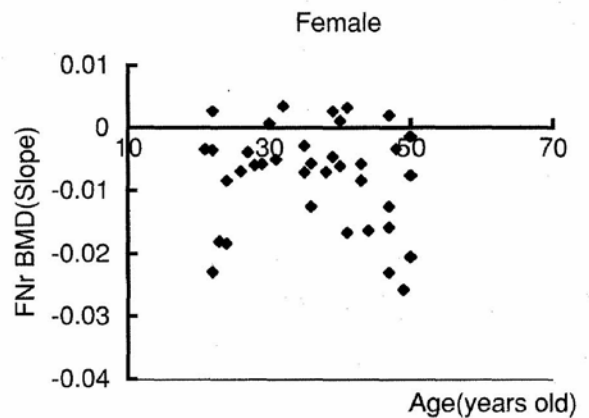


図5 FNr BMD平均低下率の加齢変化
FNr; Femoral Neck (right)

VDR 遺伝子 ; Bsm I (BB 型, Bb 型, bb 型),
Apa I (AA 型, Aa 型, aa 型)

ER 遺伝子 ; Pvu II (PP 型, Pp 型, pp 型),
Xba I (XX 型, Xx 型, xx 型)

男性の Bsm I および Apa I で識別される VDR 遺伝子多型の出現頻度は、それぞれ BB (8.7%), Bb (39.1%), bb (52.2%), AA (9.7%), Aa (39.1%), aa (52.2%) であり、また、Pvu II および Xba I で識別される ER 遺伝子多型の出現頻度は、それぞれ PP (8.7%), Pp (56.5%), pp (34.8%), XX (0%), Xx (13.0%), xx (87.0%) であった。

女性の Bsm I および Apa I で識別される VDR 遺伝子多型の出現頻度は、それぞれ BB (2.7%), Bb (10.8%), bb (86.5%), AA (8.1%), Aa (40.5%), aa (51.4%) であり、また、Pvu II および Xba I で識別される ER 遺伝子多型の出現頻度

は、それぞれ PP (16.2%), Pp (56.8%), pp (27.0%), XX (5.4%), Xx (29.7%), xx (64.9%) であった。

男女ともに Genotype が bb 型, aa 型, xx 型の方が BB 型, AA 型よりも 6.0 ~ 32.0 倍で (XX 型は、本研究では出現せず), Bb 型, Aa 型, Xx 型よりも 1.3 ~ 8.0 倍で出現頻度が高かった。しかし逆に、Pp 型は男女とも pp 型よりも 1.6 ~ 2.1 倍で、PP 型よりも 3.5 ~ 6.5 倍で出現頻度が高かった (図 6-7)。

2. 4 遺伝子多型別 BMD 平均低下率の平均値

女性における遺伝子多型別の右大腿骨頸部 BMD の加齢による個人別平均低下率 {FNr BMD (Slope)} の平均値は、VDR 遺伝子多型に関しては、BB 型が bb 型および Bb 型よりも有意ではないが、高い傾向を示した。しかし、AA 型, Aa 型, aa 型においては顕著な差が認められなかった。

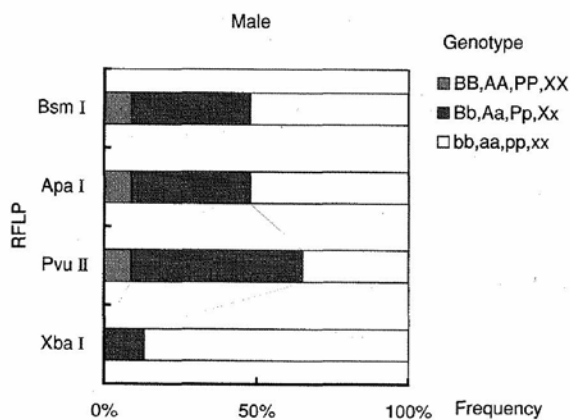


図6 男性における遺伝子多型の出現頻度
RFLP;Restriction Fragment Length Polymorphism

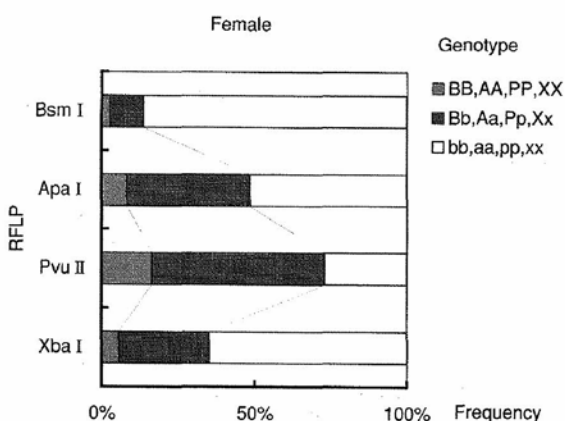


図7 女性における遺伝子多型の出現頻度
RFLP;Restriction Fragment Length Polymorphism

ER 遺伝子多型では、PP型、Pp型、pp型間に顕著な差が認められなかったが、Xx型がxx型よりも有意 ($p < 0.05$) に高く、またXX型よりも有意ではないが高い傾向が認められた (図8-11)。

女性では、左大腿骨頸部BMDおよびL2-4 BMDにおいても、遺伝子多型間で同様の傾向が認められたが、男性では、いずれのBMDにおいても明確な差が認められなかった。

2. 5 BMD 平均低下率の加齢変化におよぼす遺伝子多型の影響

女性における遺伝子多型別の右大腿骨頸部BMDの加齢による個人別平均低下率 {FNr BMD (Slope)} と骨密度測定時 (期間中) の平均年齢との関係を直線回帰し、その回帰係数を比較すると、VDRとER遺伝子のいずれにおいても、ヘテ

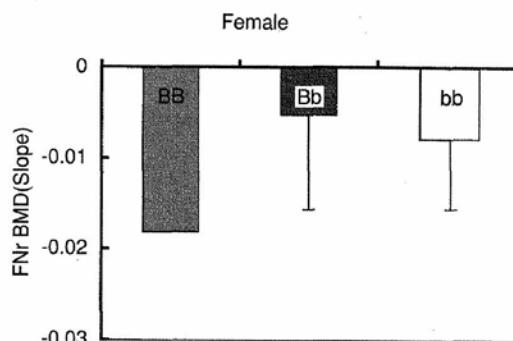


図8 VDR Genotype(Bsm I)別 FNr BMD 平均低下率
VDR;Vitamin D Receptor,FNr;Femoral Neck (right)

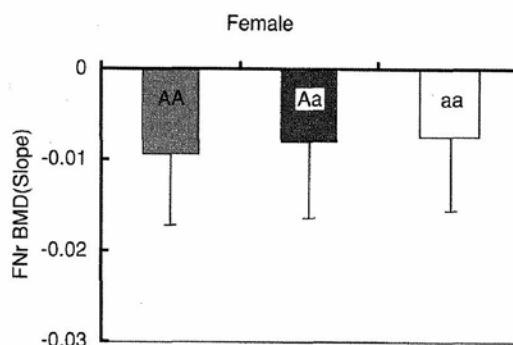


図9 VDR Genotype(Apa I)別 FNr BMD 平均低下率
VDR;Vitamin D Receptor, FNr;Femoral Neck (right)

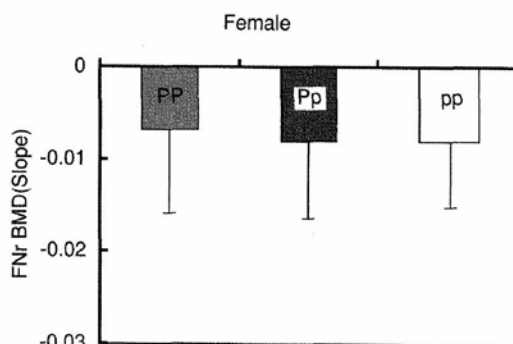


図10 ER Genotype(Pvu II)別 FNr BMD 平均低下率
ER;Estrogen Receptor, FNr;Femoral Neck (right)

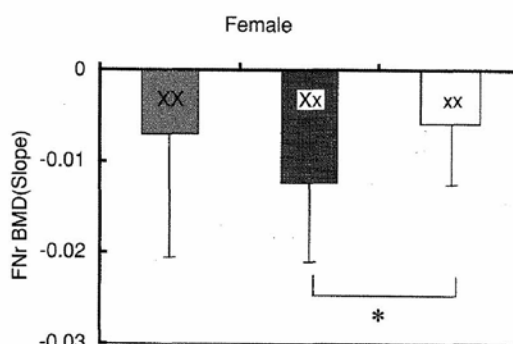


図11 ER Genotype(Xba I)別 FNr BMD 平均低下率
ER;Estrogen Receptor, FNr;Femoral Neck (right),
* : $p < 0.05$

ロタイプであるBb型, Aa型, Pp型, Xx型がホモタイプであるbb型, aa型, pp型, xx型よりも係数が大きく(負方向), 骨密度の低下率が高いことが認められた(図12-15). 女性では, 左大腿骨頸部BMDおよびL2-4 BMDにおいても, 同様の結果が認められたが, 男性では, いずれのBMDにおいても明確な差が認められなかった.

2. 6 BMD平均低下率と形態の関係におよぼす遺伝子多型の影響

女性における形態(BMIの平均値)と右大腿骨頸部BMDの加齢による個人別平均低下率 {FNr

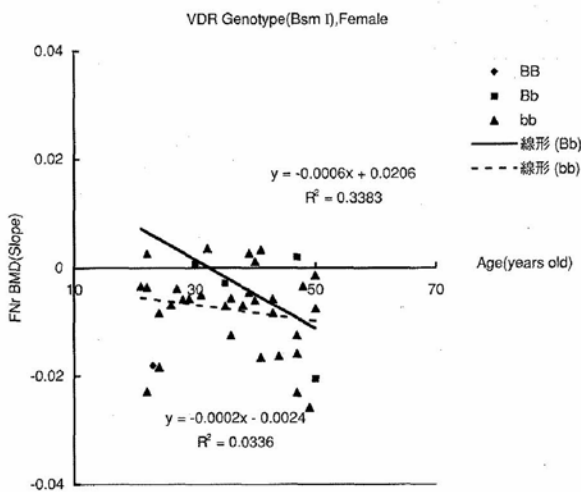


図12 女性におけるFNr BMD平均低下率の加齢変化におよぼすVDR Genotype(Bsm I)の影響
VDR; Vitamin D Receptor, FNr; Femoral Neck (right)

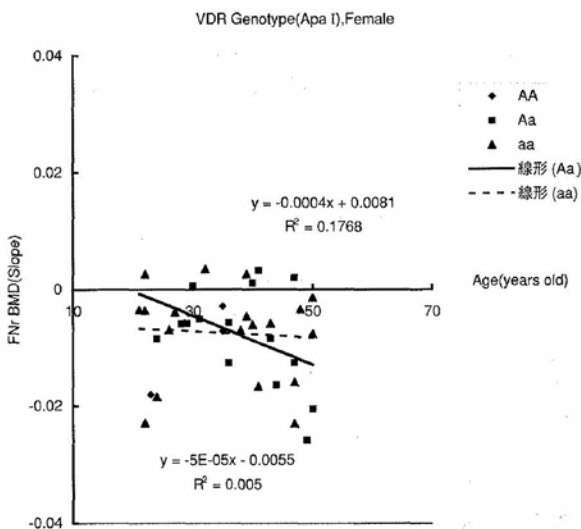


図13 女性におけるFNr BMD平均低下率の加齢変化におよぼすVDR Genotype(Apa I)の影響
VDR; Vitamin D Receptor, FNr; Femoral Neck (right)

BMD (Slope)} との相関関係を遺伝子多型別に見ると, VDRとER遺伝子のBsm I・Apa I・Pvu II・Xba I-RFLPのいずれにおいても有意ではなかった. しかし, これらを直線回帰し, その回帰係数を比較すると, Bb型, Aa型, Pp型, Xx型が, bb型, aa型, pp型, xx型よりも, 高く(負方向)なる傾向が認められた(図16-17). 女性では, 左大腿骨頸部BMDおよびL2-4 BMDにおいても, 同様の傾向が認められたが, 男性では, いずれのBMDにおいても明確な差が認められなかった.

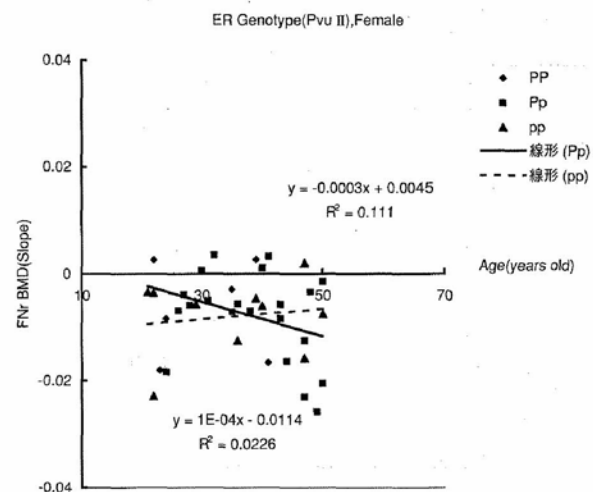


図14 女性におけるFNr BMD平均低下率の加齢変化におよぼすER Genotype(Pvu II)の影響
ER; Estrogen Receptor, FNr; Femoral Neck (right)

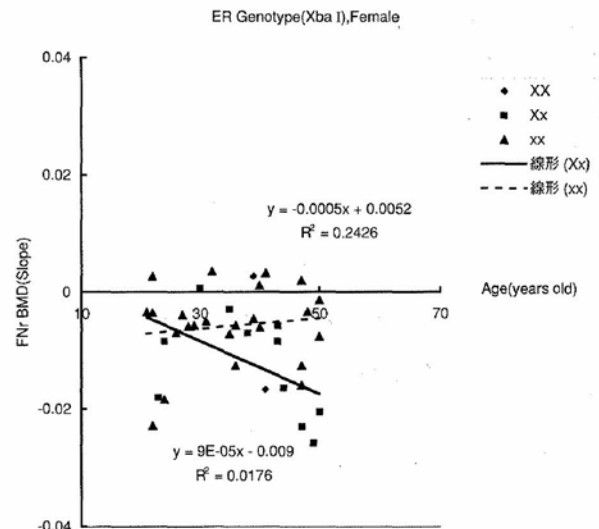


図15 女性におけるFNr BMD平均低下率の加齢変化におよぼすER Genotype(Xba I)の影響
ER; Estrogen Receptor, FNr; Femoral Neck (right)

2. 7 BMD 平均低下率と運動量の関係におよぼす遺伝子多型の影響

女性における1日平均歩数の平均値と右大腿骨頸部BMDの加齢による個人別平均低下率 [FNr BMD (Slope)] との相関関係を遺伝子多型別に見ると、VDRとER遺伝子のいずれにおいても有意ではなかった。しかし、これらを直線回帰し、その回帰係数を比較すると、Bb型がbb型よりも高く(正方向)なり(図18-19)、Aa型、Pp型、Xx型もそれぞれaa型、pp型、xx型よりも高くなった。女性では、左大腿骨頸部BMDおよびL2-4 BMDにおいても、同様の結果が認められたが、男性では、いずれのBMDにおいても明確な差が

認められなかった。

2. 8 BMD 平均低下率とBMI および1日当りの歩数以外の調査・測定・検査項目の関係におよぼす遺伝子多型の影響

BMIおよび1日当りの歩数以外の調査・測定・検査項目(睡眠時間や嗜好品摂取量, エネルギー・Ca・P摂取量, 背筋力, 血液検査値)と左・右大腿骨頸部BMDの加齢による個人別平均低下率 [FNr BMD (Slope)] との相関関係を遺伝子多型別に見ると、男女ともにVDRとER遺伝子のいずれにおいても有意な差は認められなかった。また、これらを直線回帰し、その回

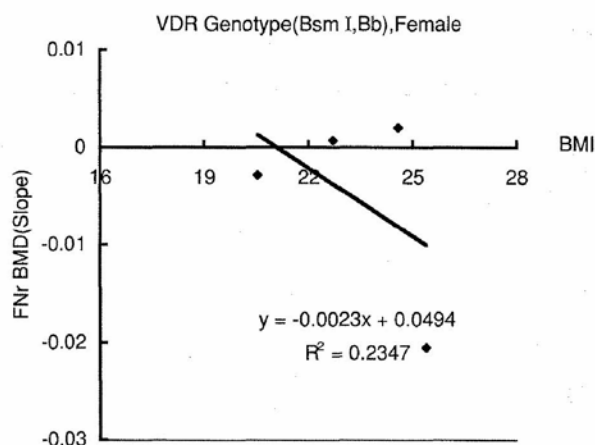


図16 VDR Genotype(Bsm I,Bb)をもつ女性におけるFNr BMD平均低下率とBMIの関係
VDR; Vitamin D Receptor, FNr; Femoral Neck (right)

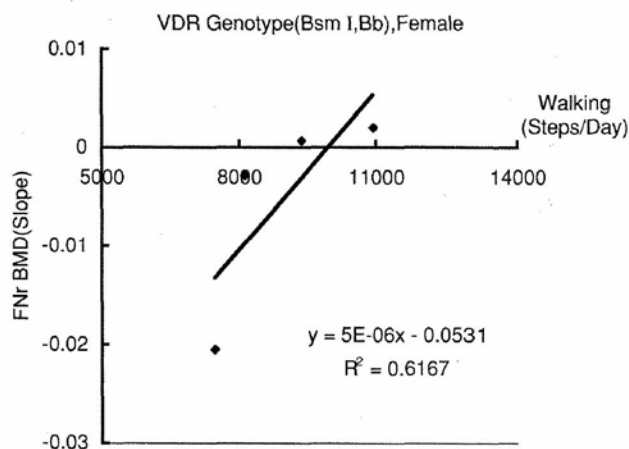


図18 VDR Genotype(Bsm I,Bb)をもつ女性におけるFNr BMD平均低下率とWalking Steps/Dayの関係
VDR; Vitamin D Receptor, FNr; Femoral Neck (right)

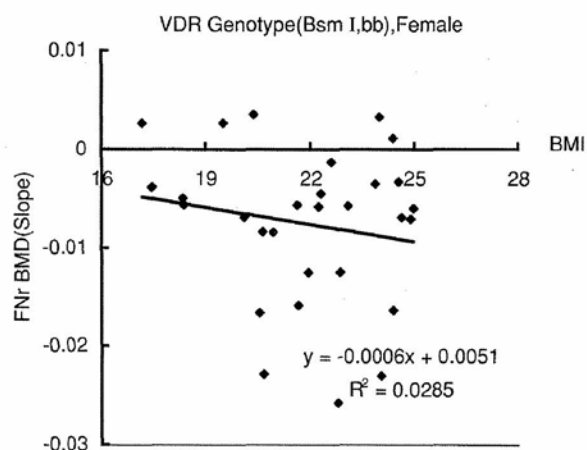


図17 VDR Genotype(Bsm I,bb)をもつ女性におけるFNr BMD平均低下率とBMIの関係
VDR; Vitamin D Receptor, FNr; Femoral Neck (right)

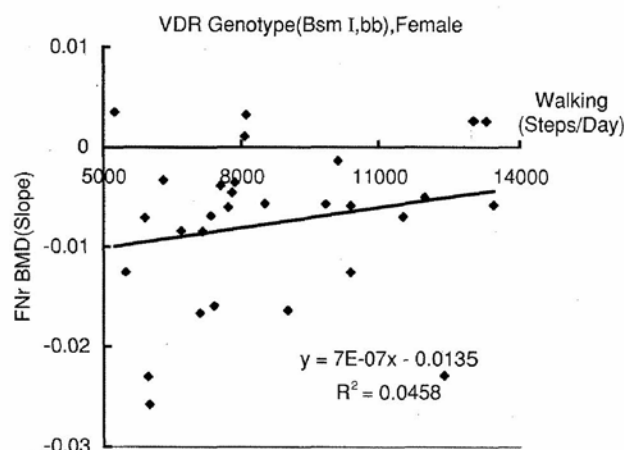


図19 VDR Genotype(Bsm I,bb)をもつ女性におけるFNr BMD平均低下率とWalking Steps/Dayの関係
VDR; Vitamin D Receptor, FNr; Femoral Neck (right)

帰係数を比較しても、遺伝子多型間に、男女ともに明確な差が認められなかった。

3. 考 察

3. 1 BMD 平均値と BMD 平均低下率の加齢変化

男女の BMD 平均値および同平均低下率と BMD 測定時平均年齢との関係は、骨量が男女ともにピークに至る年齢やその後の低下に関する先行研究⁶⁾と本研究における個人の縦断的データの平均値を平均年齢での横断的データとして処理したものとは、直接比較することはできないが、加齢による低下に同様の傾向(図2-5)が認められたことから、本研究の被験者には、身体的要因や生活習慣的要因等の特別な偏りのないことが理解される。しかしこれらのデータは、いずれにしても年齢を1つのスケールとした横断的な加齢変化であり、実際に個人のデータがそのように変化するとは言えないとの報告²⁸⁾もある。このことから、個別の加齢変化を遺伝子やそれに影響を与える生活習慣、環境等から検討する必要がある。

3. 2 遺伝子多型の出現頻度

遺伝子多型は、人種により出現頻度に偏りがあることから、本研究の出現頻度は、日本人のそれに近いものであることが関連する他の分析の前段階として必要と考えられる。その意味において、本研究の VDR 遺伝子多型における出現頻度に関しては、制限酵素 Bsm I-RFLP で識別される多型で、白人を対象とした報告¹⁵⁾とは異なっていたが、日本人を対象とした報告^{8, 16, 23)}と類似しており、制限酵素 Apa I-RFLP で識別される多型でも、先行研究¹¹⁾と類似していた。また、ER 遺伝子多型の出現頻度に関しては、閉経後の女性(腰椎 BMD)を対象とした先行研究²⁴⁾で、制限酵素 Pvu II-RFLP で識別される多型と制限酵素 Xba I-RFLP で識別される多型のいずれの出現頻度とも

類似していた。これらのことから、本研究の被験者は偏りなく抽出されていることが理解される。

3. 3 遺伝子多型別 BMD 平均低下率の平均値

Bsm I-RFLP に関しては、VDR 遺伝子多型と BMD 値に強い関連があるという報告¹⁵⁾や BB 型、Bb 型、bb 型の順に、骨量も経時的な骨量減少も大きくなるという報告²⁹⁾、あるいは bb 型の方が BB 型よりも骨密度が高いという報告⁵⁾と一部異なるがほぼ一致する結果であった。Apa I-RFLP に関しては、AA 型の BMD は Aa 型、aa 型の BMD よりも有意に高いという報告⁸⁾を支持するものではなかった。また Pvu II-RFLP と Xba I-RFLP に関しては、PP 型と xx 型が他の型よりも BMD 値が低いという報告¹³⁾と一致しなかった。これらのことから、BMD 値と BMD 平均低下率の違いや、被験者の BMD 値におよぼす他の要因等の違いが複雑に関与しているものと考えられる。

3. 4 BMD 平均低下率の加齢変化におよぼす遺伝子多型の影響

Bsm I-RFLP に関しては、b 遺伝子を持っているほど骨密度が高いとの報告¹⁵⁾や bb 群はあまり低下しないと報告⁴⁾、あるいは日本人女性の Bb 群は bb 群よりも腰椎や全身骨の骨密度が有意に低いと報告²³⁾とほぼ一致したが、閉経後では BB 型群と Bb 型群の骨密度は bb 型群のそれよりも低いものの、それから10年も経てば bb 型群の骨密度低下率の方が BB 型群や Bb 型群のそれよりも大きいことから、その差は無くなるという報告¹⁶⁾と一部異なり、本研究の女性では bb 型群の方が骨密度平均低下率が低かった。このことは、日常生活活動による被刺激性という点では、bb 型は決して高くはないことを意味しており、BB 群と bb 群の骨密度差が少なく、むしろ他の要因の方が大きいとの報告²⁾や近年 VDR 遺伝子多型 (Bsm I) の違いによる、繊維芽細胞

におけるVDR蛋白の発現量に対する影響は認められないとの報告⁷⁾もあることから、その原因は食事以外の環境的要因や身体に直接関与する身体的要因等が多因子性に複雑に関係するものと思われる。少なくとも性・年齢別の骨密度が高く、その経年的低下速度が低いVDR遺伝子多型は、VDR機能の違いとして組織や細胞特異的であることや関連する他の遺伝子の影響によることも考えられるが、身体等に関する内的要因や生活習慣等に関する外的要因に対する高い感受性を持っている可能性も考えられる。しかし、本研究は6-10年とかなり長期間にわたる骨密度変化を見ているのに対して、これらの先行研究は比較的短期間による骨密度変化を見ていることの影響力の違いによることも考えられるため、今後の研究成果が期待される。男性で、BMD平均低下率の加齢変化にVDR遺伝子多型による差が認められなかったことに関しては、VDR遺伝子多型間でBMIと1日当りの歩数に差が認められなかったことから、女性のように、VDR遺伝子多型により骨への被刺激性に差があったとしても、身体等に関する内的要因や生活習慣等に関する外的要因という意味での骨への刺激に差が無かったことや女性以上にこれらの内的・外的要因がBMD値に影響している可能性が示唆されることによるものと考えられる。その他、本研究におけるApa I-RFLPで識別される多型では、活性型VD3製剤の2年間にわたる骨密度(L2-4 BMD)を増強する治療効果に及ぼす影響は、aa群で有意($p < 0.01$)な増加であり、Aa群で増加傾向であったが、AA群では不変であったとの報告²⁴⁾と一部異なる結果であった。また、Pvu II-RFLPとXba I-RFLPで識別される多型では、PP < Pp < ppの傾向¹³⁾ということでは一致したが、XX > Xx > xxの傾向¹³⁾ということでは一致しなかった。

3. 5 BMD平均低下率と形態の関係におよぼす遺伝子多型の影響

本研究で比較的荷重の影響を受けやすい大腿骨頸部のBMD平均低下率を直線回帰した回帰係数とBMI平均値の関係に遺伝子多型が関与するかどうかを検討したところ、女性では有意ではないが各制限酵素により消化されるVDRとERのいずれにおいても、ヘテロタイプがスモールホモタイプよりも、負方向に傾きが高くなる(荷重による被刺激性が高くなる)傾向にあったことは、Apa I-RFLPとBMIに関する報告¹¹⁾と類似していた。しかし、遺伝子多型別ではないものの、骨密度は体重よりも、除脂肪体重と正の相関が高いとの報告^{27,28)}があることや、BMIが身長と体重に関する単なる体格指数であり、少なくとも体重に関しては、そこに占める筋、骨等の活性化組織と脂肪のような非活性化組織の割合が重要な意味を持つため、生理学的に意味のある除脂肪体重との関係で検討する必要がある、今後の研究成果が期待される。男性で差が認められなかったことに関しては、前述のように、遺伝子多型間でBMIに差が認められなかったことから、骨への刺激に差が無いことや女性以上にこの内的要因がBMD値に影響している可能性が示唆されることによるものと考えられる。

3. 6 BMD平均低下率と運動量の関係におよぼす遺伝子多型の影響

本研究の結果は、大腿骨頸部が運動による刺激を他の骨よりも受けやすい部位である²⁶⁾ことから、図16-17の結果と同様に、ヘテロタイプの方が、ホモタイプよりも被刺激性の高いことが示唆された。

しかし、閉経後の女性のbrisk walkingによる踵骨を対象とした先行研究では、超音波骨強度測定によるBUAの年間変化率は、bb型群でのみ対象群との間に $p < 0.05$ の有意な差が認められ、bb型

群はBB型群やBb型群よりも運動による骨の被刺激性が高いとの報告¹⁹⁾と類似しているとの報告²⁵⁾もある。本研究ではこの逆の結果となった。このことは、70歳以後ではBMDにおけるVDRの効果は消失し、BMDの差を異なる遺伝子を持つ個人間で認めることができなくなるとの報告¹⁸⁾や対象となる骨格の部位によっては遺伝子多型による影響が異なることや、さらに閉経前の女性であれば、VDR遺伝子多型とは無関係に運動が骨に有益な効果をもたらすととの報告^{1,9)}を考慮すれば、本研究の被験者が閉経前と閉経後の両者および両状態が混在しているため、遺伝子多型による有意な関係が認められなかったものと思われる。また、本研究が6-10年という長期にわたる研究であり、閉経後10年も経つとBB型群やBb型群よりもbb型群の方がBMDの低下率が高くなるとの報告¹⁶⁾や、骨の被刺激性が高いにも係わらず、十分に刺激されなければ骨密度は逆に低くなってしまふとの報告¹⁹⁾を考えるならば、前述の研究²⁵⁾は長期にわたる変化の一過程を見ているとも考えられるため、本研究と大きな矛盾は無いものと思われる。男性で差が認められなかったことに関しては、前述のように、遺伝子多型間で1日当りの歩数に差が認められなかったことから、骨への刺激に差が無いことや女性以上にこの外的要因がBMD値に影響している可能性が示唆されることによるものと考えられる。

これらのことを総括すると、VDR遺伝子多型と運動トレーニングとの相互作用は、対象者の年齢やトレーニングの種類、強度だけでなく、骨表現型の評価方法や測定部位の違いにより、研究成果に違いが生じていることから、VDR遺伝子やER遺伝子内に存在する他の多型との相互作用や総合的作用を検討するさらに大がかりな研究の必要性が示唆された。

4. 結 論

ライフスタイルと骨代謝関連遺伝子多型性等が骨密度の加齢変化に及ぼす影響を検討した結果、以下のことが理解された。

骨密度の加齢による平均低下率（直線回帰による回帰係数、スロープ）は、男性に関しては明確な結果が得られなかったが、女性では、VDRとERのいずれの遺伝子多型においても、ヘテロ型（Bb型、Aa型、Pp型、Xx型）の方がスモールホモ型（bb型、aa型、pp型、xx型）よりも高く、またBMIと1日当りの歩行数が骨密度に及ぼす影響も、同様の傾向を示したことから、ヘテロ型の方がスモールホモ型よりも、骨の被刺激性が高いことが示唆された。

このことから、転倒による骨折予防のためには、単に生活習慣を改善するだけでなく、自らの遺伝的素因について把握しておくことも大切であることが理解された。

謝 辞

本研究は、平成15年度（財）石本記念デサントスポーツ科学振興財団の研究助成（第25回研究助成金）により実施した。ご援助に対しここに謝意を表します。また本研究の実施にあたり、多大な御協力を頂いた勝木グループの職員および同骨粗鬆症研究会の연구원の方々から御礼申し上げます。

文 献

- 1) Blanchet, C., Giguere, Y., Prud'homme, D., Dumont, M., Rousseau, F., and Dodin, S. Association of physical activity and bone : Influence of vitamin D receptor genotype. *Med. Sci. Sports Exerc.* 34, 24-31 (2002)
- 2) Cooper, G.S. and Umbach, D.M. Are vitamin D receptor polymorphisms associated with bone mineral density ? A meta-analysis. *J. Bone Miner. Res.*, 11, 1841-1849 (1996)

- 3) Eisman, J.A. Genetics of osteoporosis. *Endocr. Rev.*, 20, 788-804 (1999)
- 4) Ferrari, S., Rizzoli, R., Chevalley, T., Slosman, D., Eisman, J.A., and Bonjour, J.P. Vitamin-D-receptor-gene polymorphisms and change in lumbar-spine bone mineral density. *Lancet*, 345, 423-424 (1995)
- 5) Fleet, J.C., Harris, S.S., Wood, R.J., and Dawson-Hughes, B. The Bsm I vitamin D receptor restriction fragment length polymorphism (BB) predicts low bone density in premenopausal black and white women. *J. Bone Miner. Res.*, 10, 985-990 (1995)
- 6) Fukunaga, M. Significance of bone mass measurement. *The Bone*, 5 (3) 45-51 (in Japanese) (1991)
- 7) Gross, C., Musiol, I.M., Eccleshall, T.R., Malloy, P.J. and Feldman, D. Vitamin D receptor gene polymorphisms : Analysis of ligand binding and hormone responsiveness in cultured skin fibroblast. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 242, 467-473 (1998)
- 8) Iki, M., Dohi, Y., Kajita, E., Nishino, H., Mitamura, S., Kusaka, Y., Morita, A., Sato, K., and Yonemasu, K. Vitamin D receptor genotype and lumbar bone density in healthy Japanese women. *Osteoporosis Japan*, 4, 31-35 (in Japanese with English abstract) (1996)
- 9) Jarvinen, T.L., Jarvinen, T. A., Sievanen, H., Heinonen, A., Tanner, M., Huang, X.H., Nenonen, A., Isola, J.J., Jarvinen, M., and Kannus, P. Vitamin D receptor alleles and bone's response to physical activity. *Calcif. Tissue Int.*, 62, 413-417 (1998)
- 10) Keen, R.W., Major, P.J., Lanchbury, J.S., and Spector, T.D. Vitamin-D-receptor-gene polymorphism and bone loss. *Lancet*, 345, 990 (1995)
- 11) Kitagawa, I., Kitagawa, Y., Kawase, Y., Nagaya, T., and Tokudome, S. Advanced onset of menarche and higher bone mineral density depending on vitamin D receptor gene polymorphism. *Eur. J. Endocrinol.*, 139, 522-527 (1998)
- 12) Kitagawa, I., Kitagawa, Y., Nagaya, T. and Tokudome, S. Interplay of physical activity and vitamin D receptor gene polymorphism on bone mineral density. *J. Epidemiol.*, 11, 229-232 (2001)
- 13) Kobayashi, S., Inoue, S., Hosoi, T., Ouchi, Y., Shiraki, M., and Orimo, H. Association of bone mineral density with polymorphism of the estrogen receptor gene. *J. Bone Miner. Res.*, 11, 306-311 (1996)
- 14) Mizunuma, H., Hosoi, T., Okano, H., Soda, M., Tokizawa, T., Kagami, I., Miyamoto, S., Ibuki, Y., Inoue, S., Shiraki, M., and Ouchi, Y. Estrogen receptor gene polymorphism and bone mineral density at the lumbar spine of pre- and postmenopausal women. *Bone*, 21, 379-383 (1997)
- 15) Morrison, N. A., Qi, J.C., Tokita, A., Kelly, P. J., Crofts, L., Nguyen, T. V., Sambrook, P.N., and Eisman, J.A. Prediction of bone density from vitamin D receptor alleles. *Nature*, 367, 284-287 (1994)
- 16) Murakami, F., Hagino, H., Simomura, T., Ikawa, S., Hirano, Y., Iijima, K., and Yamamoto, K. [Association of bone mineral density with vitamin D receptor gene polymorphism--changes in radial bone mineral density with long-term follow-up: longitudinal study]. *Rinsho Byori*, 46, 766-773 (1998)
- 17) Pocock, N.A., Eisman, J.A., Hopper, J.L., Yeates, M.G., Sambrook, P.N., and Ebert, S. Genetic determinants of bone mass in adults : A twin study. *J. Clin. Invest.*, 80, 706-710 (1987)
- 18) Riggs, B.L., Nguyen, T.V., Melton, L.J. III, Morrison, N.A., O'Fallon, W.M., Kelly, P.J., Egan, K.S., Sambrook, P.N., Muhs, J.M., and Eisman, J.A. The contribution of vitamin D receptor gene alleles to the determination of bone mineral density in normal and osteoporotic women. *J. Bone Miner. Res.*, 10, 991-996 (1995)
- 19) Salamone, L.M., Glynn, N.W., Black, D.M., Ferrell, R.E., Palermo, L., Epstein, R.S., Kuller, L.H., and Cauley, J.A. Determinants of premenopausal bone mineral density: The interplay of genetic and lifestyle factors. *J. Bone Miner. Res.*, 11, 1557-1565 (1996)
- 20) Seeman, E., Hopper, J.L., Bach, L.A., Cooper, M.E., Parkinson, E., Makay, J., and Jerums, G. Reduced bone mass in daughters of women with osteoporosis. *New Engl. J. Med.*, 320, 554-558 (1989)
- 21) Slemenda, C.W., Christian, J.C., Williams, C.J., Norton, J.A., and Johnston, C.C. Jr. Genetic determinants of bone mass in adult women: a reevaluation of the twin model and the potential importance of gene interaction on heritability estimates. *J. Bone Miner. Res.*, 6, 561-567 (1991)
- 22) Smith, E.P., Boyd, J., Frank, G.R., Takahashi, H., Cohen, R.M., Specker, B., Williams, T.C., Lubahn, D.B., and Korach, K.S. Estrogen resistance caused by a mutation in the estrogen-receptor gene in a man.

- New Engl. J. Med.*, 331,1056-1061 (1994)
- 23) Tokita, A., Matsumoto, H., Morrison, N.A., Tawa, T., Miura, Y., Fukamauchi, K., Mitsunashi, N., Irimoto, M., Yamamori, S., Miura, M., Watanabe, T., Kuwabara, Y., Yabuta, K. and Eisman, J.A. Vitamin D receptor alleles, bone mineral density and turnover in Premenopausal Japanese women. *J. Bone Miner. Res.*, 11, 1003-1009 (1996)
- 24) Tomita, M. Estrogen receptor and vitamin D receptor gene polymorphisms and bone mineral density : Interaction with 1α -hydroxy vitamin D₃ therapy and hormone replacement therapy. *J. Jpn. Menopause Soc.*, 7, 97-101. (in Japanese with English abstract) (1999)
- 25) Tsuritani, I., Brooke-Wave II, K.S., Mastana, S.S., Jones, P.R., Hardman, A.E., and Yamada, Y. Dose vitamin D receptor polymorphism influence the response of bone to brisk walking in postmenopausal women ? *Horm. Res.*, 50, 315-319 (1998)
- 26) Usui, S., Nakada, T., Yamaguchi, M., Hirano, A., Okano, R., Katsuki, K., and Katsuki, M. The study of individual difference for nutrition and physical activity of daily living on BMD (Bone Mineral Density) in women's elite and high school distance runners fractured or not fractured by fatigue originated in over use and others. *Ono Sports Science*, 1, 7-24 (in Japanese with English abstract) (1993)
- 27) Usui, S., Nakada, T., Okano, R., Katsuki, K., Hanayama, K., Yamaguchi, M., Katsuki, M., and Kurihara, S. The influence of exercise and nutrition on the bone mineral density in sportswomen. *Jpn. J. Phys. Fitness Sports Med.*, 43, 259-268 (in Japanese with English abstract) (1994)
- 28) Usui, S., Nakada, T., Katsuki, Y., Katsuki, K., and Katsuki, M. Study on prevention of osteoporosis based on factors influencing longitudinal changes of bone mineral density (BMD) over a long period of time. *Descende Sports Science*, 20, 116-125 (in Japanese with English abstract) (1999)
- 29) Yamagata, Z., Miyamura, T., Iijima, S., Asaka, A., Sasaki, M., Kato, J., and Koizumi, K. Vitamin D receptor gene polymorphism and bone mineral density in healthy Japanese women. *Lancet*, 344, 1027 (1994)